








BIODEGRADABLE ARTICLES OBTAINED FROM ENZYMATICALLY SYNTHESIZED AMYLOSE

Patent number: WO0206507
Publication date: 2002-01-24
Inventor: KITAMURA SHINICHI (JP); SHIRAISHI NOBUO (JP); YOSHIOKA MARIKO (JP); KUDO KENICHI (JP); OKADA SHIGETAKA (JP); TAKAHA TAKESHI (JP); FUJII KAZUTOSHI (JP); TERADA YOSHINOBU (JP)
Applicant: EZAKI GLICO CO (JP); SANWA KOSAN KK (JP); GREEN BIO INC (JP); KITAMURA SHINICHI (JP); SHIRAISHI NOBUO (JP); YOSHIOKA MARIKO (JP); KUDO KENICHI (JP); OKADA SHIGETAKA (JP); TAKAHA TAKESHI (JP); FUJII KAZUTOSHI (JP); TERADA YOSHINOBU (JP)
Classification:
- **International:** A61K9/48; A61K9/50; A61L15/28; A61L15/64; A61L24/00; A61L24/08; A61L31/04; A61L31/14; C08B30/20; C08L3/12; C08L3/14; C09D103/12; C09D103/14; C09J103/12; C09J103/14; C12P19/04; A61K9/48; A61K9/50; A61L15/16; A61L24/00; A61L31/04; A61L31/14; C08B30/00; C08L3/00; C09D103/00; C09J103/00; C12P19/00; (IPC1-7): C12P19/04; A01N25/00; A01N25/34; A61K9/48; A61K47/36; A61L15/14; A61L24/08; A61L31/04; C05G3/00; C08B30/20; C08J5/18; C08L3/12; C08L3/14; C09D103/12; C09D103/14; C09D167/04; C09J103/12; C09J103/14; C09J167/04
- **European:** A61K9/48B; A61K9/50H6F; A61L15/28; A61L15/64; A61L24/00H9; A61L24/08; A61L31/04D; A61L31/14K; C08B30/20; C08L3/12; C08L3/14; C09D103/12; C09D103/14; C09J103/12; C09J103/14
Application number: WO2001JP06147 20010717
Priority number(s): JP20000216335 20000717

Also published as:

 EP1304384 (A1)
 US2004009218 (A1)

Cited documents:

 JP7289278
 WO9013576
 EP0376201
 JP4046901
 XP002948585
more >>

Report a data error here

Abstract of WO0206507

Biodegradable articles obtained from an enzymatically synthesized amylose which has been enzymatically synthesized with the use of phosphorylase characterized in that the enzymatically synthesized amylose is made up of sugar units linked to each other exclusively via alpha -1,4-bond and has a weight-average molecular weight of 100 kDa or more, preferably 600 kDa or more. Furthermore, the enzymatically synthesized amylose preferably employed herein has a molecular weight distribution of 1.25 or below and may be chemically modified if needed. The above-described biodegradable articles can be produced by using the above enzymatically synthesized amylose or a chemically modified derivative thereof alone or a combination of (a) the enzymatically synthesized and/or a chemically modified derivative thereof with (b) other polymer material(s).

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002 年1 月24 日 (24.01.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/06507 A1

(51) 国際特許分類: C12P 19/04, C08B 30/20, C08L 3/12, 3/14, A61L 15/14, 24/08, 31/04, A61K 47/36, 9/48, C09D 103/12, 103/14, 167/04, A01N 25/00, 25/34, C09J 103/12, 103/14, 167/04, C05G 3/00, C08J 5/18

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/06147

(22) 国際出願日: 2001 年7 月17 日 (17.07.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2000-216335 2000 年7 月17 日 (17.07.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 江崎
グリコ株式会社 (EZAKI GLICO CO., LTD.) [JP/JP];

〒555-8502 大阪府大阪市西淀川区歌島4丁目6番5号 Osaka (JP). 三和興産株式会社 (SANWA KOSAN KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒634-0834 奈良県橿原市雲梯町1番地 Nara (JP). 株式会社 グリーンバイオ (GREEN BIO INC.) [JP/JP]; 〒606-0805 京都府京都市左京区下鴨森本町15番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 北村進一 (KITAMURA, Shinichi) [JP/JP]; 〒606-8522 京都府京都市左京区下鴨半木町1番5号 京都府立大学農学部生物資源化学科内 Kyoto (JP). 白石信夫 (SHIRAISHI, Nobuo) [JP/JP]; 〒606-0805 京都府京都市左京区下鴨森本町15番地 株式会社 グリーンバイオ内 Kyoto (JP). 吉岡まり子 (YOSHIOKA, Mariko) [JP/JP]; 〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町 京都大学大学院農学研究科内 Kyoto (JP). 工藤謙一 (KUDO, Kenichi) [JP/JP]; 〒

[続葉有]

(54) Title: BIODEGRADABLE ARTICLES OBTAINED FROM ENZYMATICALLY SYNTHESIZED AMYLOSE

(54) 発明の名称: 酵素合成アミロースから得られる生分解性物品

(57) Abstract: Biodegradable articles obtained from an enzymatically synthesized amylose which has been enzymatically synthesized with the use of phosphorylase characterized in that the enzymatically synthesized amylose is made up of sugar units linked to each other exclusively via α -1,4-bond and has a weight-average molecular weight of 100 kDa or more, preferably 600 kDa or more. Furthermore, the enzymatically synthesized amylose preferably employed herein has a molecular weight distribution of 1.25 or below and may be chemically modified if needed. The above-described biodegradable articles can be produced by using the above enzymatically synthesized amylose or a chemically modified derivative thereof alone or a combination of (a) the enzymatically synthesized and/or a chemically modified derivative thereof with (b) other polymer material(s).

(57) 要約:

本発明は、ホスホリラーゼを用いて酵素合成された酵素合成アミロースから得られる生分解性物品であって、酵素合成アミロースが、 α -1,4-グルコシド結合のみにより連結された糖単位から構成され、そして重量平均分子量100kDa以上、より好ましくは600kDa以上であることを特徴とする生分解性物品を提供する。本発明で好適に使用される酵素合成アミロースは、更に分子量分布1.25以下を有し、所望により化学修飾されていてよい。

本発明の生分解性物品は、前記酵素合成アミロースまたはその化学修飾体を単独で用いて、あるいは(a)前記酵素合成アミロースおよび/またはその化学修飾体と(b)他の高分子材料との組み合わせを用いて製造することができる。



634-0834 奈良県橿原市雲梯町594番地 三和澱粉工業株式会社内 Nara (JP). 岡田茂孝 (OKADA, Shigetaka) [JP/JP]. 鷹羽武史 (TAKAHA, Takeshi) [JP/JP]. 藤井和俊 (FUJII, Kazutoshi) [JP/JP]. 寺田喜信 (TERADA, Yoshinobu) [JP/JP]; 〒555-8502 大阪府大阪市西淀川区歌島4丁目6番5号 江崎グリコ株式会社内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 青山 葆, 外 (AOYAMA, Tamotsu et al.); 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ,

PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

酵素合成アミロースから得られる生分解性物品

技術分野

- 5 本発明は、生分解性物品、特にホスホリラーゼを用いて酵素合成された酵素合成アミロースから得られる生分解性物品に関する。

用語の定義

- 10 本明細書中において、「物品」とは、一般的に考えられる形のある物のみならず、形態のない無形物等も包含する広い概念で用いるが、食品や食品添加物あるいは内容物を封入したカプセル剤は除く。より具体的には、物品は、従来より合成高分子が広く使用されている物品、たとえば、①フィルムやシート及び容器・包装材などの成形物、②塗料や接着剤、および③天然高分子である澱粉、蛋白などが使用されている医農薬品や肥料を包含する。

- 15 また、「カプセル」という用語は、一般には服用し難い薬剤などを封入する容器の意で用いられているが、本明細書中では、そのような容器自体を意味する用語として用い、薬剤などの内容物を封入したものを「カプセル剤」と呼ぶ。更に、広義の「カプセル」には、単に物質を樹脂などで覆ったもの、あるいは樹脂混合物を粉砕したものも含むこともあるが、本明細書では、このようなものは含まない。

20 背景技術

- 石油を原料とする合成高分子は、生産量が膨大にもかかわらず自然環境下で分解しないこと、及び焼却時に有毒ガスを発生することなどから廃棄処理が大きな社会問題になっている。また、石油系プラスチック、たとえば、ポリスチレンやポリカーボネートなどは環境ホルモンの含有が指摘され人類の生存に懸念を投げかけている。その他のプラスチックにおいても含有されるオリゴマーの人体に対する影響が危惧されている。

- 25 さらに、石油資源枯渇後の資源エネルギー対策や炭酸ガスゼロ・エミッションシステム構築の観点から、農産物、特に澱粉原料からの石油系プラスチック代替製品の開発が重要視されている。

そこで、近年、石油原料の高分子材料に替わるものとして、人体にやさしく自然環境を破壊しない再生循環型資源である澱粉や木材等から製造された高分子材料が開発されている。これらの製品は人体に対する安全性に関して長い使用実績がある。また、土壌中に埋蔵することにより細菌や微生物により分解される特性を有している。

澱粉を原料とした製品としては、澱粉を適当な水分存在下で押出発泡したバラ状緩衝材や、澱粉スラリーを加熱発泡して成形したトレーやカップなどが開発されている。しかし、通常の澱粉製品は耐水性や強度特性が石油原料の合成高分子に比較して劣る。そこで、澱粉単独でフィルムやシート、成形品として使用できない場合には、澱粉を他の生分解性を備えた合成系のプラスチックとブレンドした製品が開発されているが工業製品として満足できるものはない。市販の石油原料のプラスチックに対抗できる澱粉製品の開発が待望されている。

しかし、従来の澱粉製品には、次のような問題点が指摘されている。

(a) 天然澱粉は通常、アミロース（グルコースが直鎖状に結合した構造のポリマー）とアミロペクチン（アミロースに枝別れが生じた房状のポリマー）の両方の混合体からなる。一般に、直鎖状のアミロースは加工性、フィルム特性、成形性において合成プラスチックに匹敵する特性を備えているが、アミロペクチンは強度特性においてより劣った性能を示す。しかし、天然澱粉は、アミロース含有量が多いハイアミロースコーンスターチでもアミロース含有量が約70%以下であり、普通種のコーンスターチでは25%程度と低い。

そのため、天然澱粉をそのまま利用すると、強度のみならず、加工性や成形性などの性質が不十分となる。

(b) 天然澱粉から、アミロースを分離抽出することは可能であるが、その操作は煩雑で、収率も低く、工業的製法にはなりえない。

(c) さらに、天然澱粉に含まれるアミロースの分子量は、通常、数万から数十万Daと低く、そのため老化し易くかつ機械強度も低いことはよく知られている。したがって、天然物から分離生成されたとしても、このようなアミロースは市販プラスチック代替に使用できる特性を備えていない。

(d) 天然澱粉に含まれるアミロースは、通常、分子量分布 (M_w/M_n) が

1. 3以上と広く、①結晶化しやすい低分子量アミロースや、②水に溶解しやすい高分子量体、③その中間の分子量のゲル化し易いアミロースが混在するため、相互に他の分子量領域の優れたアミロース特性を阻害し合う。従って、加工性を始め、最終製品の特性も劣ったものとなる。

5 (e) 天然澱粉に含まれるアミロースは、完全に直鎖構造ではなく、僅かな分岐構造を持っている。そのため結晶の核生成速度が速く、結晶化が起こり易い。その結果、フィルムやシートなどの組織を不均一構造にし、透明性と力学強度を低下する。

10 (f) 天然澱粉に含まれるアミロースは、130℃の熱水には溶解するが、前記(c)、(d)及び(e)項の原因により、温度が低下すると沈殿が生じ(再結晶化)、糊液が白濁する。したがって、成形品は不均一構造になり、加工性が劣り、製品も不透明、強度の低いものになる。

15 (g) 天然澱粉に含まれるアミロースは、ジメチルスルホオキシドやジメチルホルムアミドのような溶剤には溶解するが、通常、水のような安価な溶剤には溶解しない。したがって、天然澱粉に含まれるアミロースの使用は、溶剤を回収する必要などからプロセスが複雑になり、経済性の面からも工業的製法とはいえない。また、アミロースの高分子特性を改良するため各種化学修飾を加える上においても適当な溶剤の存在しないことは致命的である。

20 (h) 天然澱粉の高分子特性を改良するため、澱粉分子鎖へのメチルアクリレートやメチルメタアクリレート、スチレンなどビニルモノマーのグラフト重合体も開発されたが、製造価格の上昇に見合う性能向上は認められず、また、ビニルモノマー部分は生分解性を示さなかった。

 (i) 天然アミロースは化学架橋で膨潤度を制御することが困難である。

25 上述のような理由から、天然アミロースの工業的応用は進展しなかったものと思われる。

発明の開示

従って、本発明の目的は、上記天然澱粉および天然アミロースに関する欠点が解消されたアミロースを含有する生分解性物品を提供することである。本発明者らは、特にホスホリラーゼを用いた酵素合成法により得られる、重量平均分子量

100 kDa 以上でかつ天然アミロースよりも狭い分子量分布の直鎖型アミロースを用いることにより、上記目的を達成し得ることを見出した。

即ち、本発明は、ホスホリラーゼを用いて酵素合成された酵素合成アミロースから得られる生分解性物品であって、酵素合成アミロースが、 α -1,4-グルコシド結合のみにより連結された糖単位から構成されていることを特徴とする生分解性物品を提供する。本発明の生分解性物品は、生分解性、透明性、加工性及び強度特性にすぐれている。

図面の簡単な説明

図1は、本発明のカプセル剤10を製造するのに採用できる公知の二重ノズル滴下法において使用される装置100の模式的な断面図を表す。装置100において、内容物12とカプセル被膜11を内径 ϕ_1 のノズル110および ϕ_2 の被膜液用ノズル120からそれぞれ噴出し、それらを乾燥のために水・エタノール混合溶液130中に滴下させることによって、本発明のカプセル剤10が得られる。

発明を実施するための最良の形態

(酵素合成アミロース)

アミロースを酵素を用いて合成する方法は、幾つか公知である。

例えば、天然澱粉中に存在するアミロペクチンの α -1,6-グルコシド結合のみに、枝切り酵素として既知のイソアミラーゼやプルラナーゼを選択的に作用させ、アミロペクチンを分解することにより、アミロースを得る方法（いわゆる澱粉酵素分解法）がある。しかし、この方法では、得られるアミロースが短鎖、例えば、平均重合度15～20であって、高分子量のものが得られ難く、かつ分子量制御も困難であること、そのために得られるアミロースの分子量分布が広くなること、そして更には、アミロペクチンの α -1,6-グルコシド結合の分解が完全に行なわれ難いために、100%直鎖のアミロースが得られないことなどの問題点がある。

別法として、酵素の作用によりグルコース結合を連結してアミロースを合成する方法（酵素合成法）も公知である。酵素合成法の一例として、スクロースを基質として、アミロスクラーゼ（amylosucrase、EC 2.4.1.4）を作用させる方法がある（以降、AMSU法と略す）。AMSU法は、アミロスクラーゼが、単純なアミロース合成反応以外に、スクロースの加水分解反応やスクロースやフ

ラクトースを受容体とした転移反応など、複数の反応を触媒作用するため、アミロース以外にも多量の可溶性オリゴ糖が副生される。そのため、得られるアミロースの収率は低くなるとされている (Montalkら、FEBS Letters 471、第219～223頁 (2000年))。また、AMS U法では、アミロースの重合度や分子量分布を制御することも困難である。一般的に、AMS U法で合成されるアミロースは、不溶性のアミロース、すなわち低重合度のアミロースである。前述のMontalkらの文献には、高度に精製されたアミロスクラーゼを用いて製造されるアミロースであっても、分子量は8,941 (すなわち、重合度55) であると報告されている。このようなアミロースは、沈殿を形成し易く、老化し易く、それゆえに機械強度も低い。従って、AMS U法によって得られる酵素合成アミロースは、十分な強度が要求される生分解性物品の製造には適さない。

前記AMS U法以外の酵素合成法として、ホスホリラーゼを用いる方法がある。ホスホリラーゼは、加リン酸分解反応を触媒作用する酵素である。例えば、グルカンホスホリラーゼ (α -glucan phosphorylase、EC 2.4.1.1; 通常、ホスホリラーゼという) を作用させて、基質であるグルコース-1-リン酸 (以降、G-1-Pという) のグルコシル基をプライマーであるマルトヘプタオースなどに転移する方法 (以降、GP法という) や、スクロースを基質とし、そしてマルトオリゴ糖をプライマーとしてそれぞれ用い、これらにスクロースホスホリラーゼ (sucrose phosphorylase、EC 2.4.1.7) とグルカンホスホリラーゼを無機リン酸の存在下で同時に作用させることによってアミロースを酵素合成する方法 (以降、SP-GP法という) などがある。前記GP法は、原料であるG-1-Pが高価であるため、アミロースを工業的に生産するのにはコストがかかるという不利益はあるものの、糖単位を α -1,4-グルコシド結合のみで逐次結合させることにより100%直鎖のアミロースが得られること、そしてその重合度を自由に制御できるという利点を有する。またSP-GP法は、GP法と同様100%直鎖のアミロースの重合度を自由に制御して製造できることに加え、安価なスクロースを原料とすることで、製造コストをより低くできるという利点を有する。

本発明者等は、このようなホスホリラーゼを用いる酵素合成法によって得られた100kDa以上、好ましくは300kDa以上、より好ましくは600kD

a 以上の広範な重量平均分子量 (M_w) と、1.25 以下、好ましくは、1.15 以下の狭い分子量分布 (M_w/M_n) とを合わせ持つ直鎖型酵素合成アミロースを用いて所望の特性を有する生分解性物品を得たことにより、本発明を達成するに至った。

すなわち、本発明で使用される酵素合成アミロースは、ホスホリラーゼを用いた酵素合成法により、特に好ましくは前記GP法および／またはSP-GP法により酵素合成されたものである。これらの合成法で得られる酵素合成アミロースは、所望の分子量および狭い分子量分布を有し、その上、完全に直鎖構造100%であることを特徴とする。このような特徴を有する酵素合成アミロースは、各分子量に依存する物性の変化を十分理解し、それを応用することで、従来の澱粉製品の性能範囲を越えた特性が得られる。

本発明において、前記酵素合成法、特にGP法および／またはSP-GP法で使用する酵素（ホスホリラーゼ）は、特に制限されず、動物、植物、微生物中に広く分布し、かつ上記分子量と分子量分布の酵素合成アミロースを合成できる酵素であれば、その起源、調製法を問わず利用することができる。もちろん遺伝子組換技術により生産された酵素を利用することも可能である。より好ましくは、スクロースホスホリラーゼとして、Leuconostoc属細菌由来の酵素を用いることが好ましい。他方、グルカンホスホリラーゼとしては、植物起源のもの、中でも馬鈴薯や甘藷澱粉由来のものが、その植物組織内での存在量が多く、産業利用面からは特に好適である。

本発明の生分解性物品は、とりわけ前記GP法および／またはSP-GP法を採用して酵素合成される、 M_w 100 kDa 以上、好ましくは300 kDa 以上、より好ましくは600 kDa 以上で6,000 kDa 以下、および M_w/M_n 1.25 以下、好ましくは1.0～1.2、より好ましくは1.0～1.15を有する酵素合成アミロースを含んで成る。当該方法では、 M_w 6,000 kDa を超える酵素合成アミロースの製造も可能であるが、実際の工業的利用における実用性を考慮すると、 M_w が6,000 kDa 以下の酵素合成アミロースを用いることが好ましい。

M_w 600 kDa 以上の酵素合成アミロースを用いてコーティングやフィル

ムなどの被膜を成形すると、 800 kg f/cm^2 (78.4 MPa) 以上の高い引張強度を達成することができる。このような高い引張強度は、天然澱粉や天然アミロースを遥かにしのぎ、さらには汎用のプラスチックの中で特に引張強度に優れる配向ポリスチレンの 700 kg f/cm^2 (68.6 MPa) をも超えるものであり、特に、縫合糸やフィルムなど強度の要求される分野に好適である。

一方で、 $M_w 300\text{ kDa}$ 以上のアミロース、特に $M_w 600\text{ kDa}$ 以上でかつ分子量分布の狭いアミロースは、安定した水溶性を示す。他方、 $M_w 100\text{ kDa}$ 以上 300 kDa 未満の酵素合成アミロースは、前記高分子量の酵素合成アミロースに比較して粘度が低く、取り扱いが容易である。しかし、その反面、このような分子量範囲にあるアミロースは、前記高分子量のアミロースと比較するとゲル化または結晶化し易い性質であるため、成膜性および加工性が低下することがある。低分子量の酵素合成アミロースのゲル化または結晶化は、例えば、以降で説明する化学修飾により疎水性の置換基を導入することで、酵素合成アミロースの分解性を制御でき、低粘度で加工しやすくすることができる。しかし、化学修飾によるアミロースの化学変性は、低分子量の酵素合成アミロースに限らず、 $M_w 300\text{ kDa}$ 以上、特に 600 kDa 以上の高分子量の酵素合成アミロースに関しても必要に応じて行なってよい。

(酵素合成アミロースの化学修飾体)

本発明で用いる酵素合成アミロースは、エステル化、エーテル化、酸化、グラフト化及び／または架橋反応により化学修飾されたものであっても良い。これにより、酵素合成アミロースの老化安定性をさらに向上でき、加工性にも優れたものとなる。

上述のエステル化反応の例としては、酵素合成アミロースを各種溶媒または無溶媒で、酸無水物、有機酸、酸塩化物、ケテンまたは他のエステル化試薬に反応させるのが一般的で、例えば酢酸エステル化、プロピオン酸エステルなどのアシル化エステルが得られる。

エーテル化反応の例としては、通常澱粉の修飾反応と同様に酵素合成アミロースをハロゲンアルキルや硫酸ジアルキルなどでアルカリの存在下にエーテル化を行なうことができる。

酵素合成アミロースの酸化方法としては、一般的には水溶液または水懸濁液中での低温酸化が好ましいが、酸化剤を含浸した粉体を加熱する方法が挙げられる。酸化に使用される好適な酸化剤は、例えば、次亜塩素酸ソーダ、過酸化水素などである。

- 5 グラフト化反応の例としては、通常の澱粉のグラフト化反応と同様に、酵素合成アミロースに、鉄またはセリウムイオンの存在下で、アクリル酸やメタクリル酸などのビニルモノマーを付加するか、または乳酸のような水酸基を持ったカルボン酸を重縮合で枝状に付加することが挙げられる。なお、生分解性を高く維持するには、乳酸やカプロラクトンなどのようにそれ自身も生分解性を持つモノマー
- 10 ーを選択する必要がある。

架橋反応の例としては、通常の澱粉の架橋反応と同様に酵素合成アミロースをホルマリン、エピクロロヒドリン、グルタルアルデヒド、各種ジグリシジルエーテル及びエステルを用いて架橋反応を行う。

- 15 前記のいずれかの化学修飾によって酵素合成アミロースへ導入される置換基が疎水性の場合、得られる化学修飾体は、その置換度（DS）の増加に比例して強い疎水性を持つようになる。これによって、Mw 100 kD以上600 kDa未満の低分子量の酵素合成アミロースであっても、吸収性や分解性を制御でき、低粘度で加工し易くすることができる。また、このような化学修飾により、生体組織との親和性も変化することから、医用材料などの用途における細胞接着性などの
- 20 制御にも有効である。

前記化学修飾により導入される置換基の増加に伴って熱可塑性も増大する。例えば、グラフト化反応によって導入される大きな置換基は、熱流動温度を大幅に低下する。そのため、通常のプラスチック成形機での成形加工が、化学修飾されていないものに比べてより容易になる。

- 25 前記化学修飾体は、耐水性を要求されるフィルムやシート、成形品分野で汎用プラスチックと同様に使用することもできる。また、前記化学修飾体は、水溶液、ペーストまたはクリーム形態への加工も容易であり、ビンまたはチューブなどに充填して長期間安定に保存することができる。

更に酵素合成アミロースは、グラフト化反応によって高吸水性ゲルを調製でき、

架橋反応に付されることにより、水及びその他の溶剤に対して不溶性化できる。
すなわち、酵素合成アミロースは、グラフト化または架橋反応に付することによ
って、広い範囲の膨潤度のゲルに調製することも可能である。

(生分解性物品)

- 5 本発明にかかる生分解性物品は、前記酵素合成アミロースおよび／またはその
化学修飾体を単独で用いて、あるいは (a) 前記酵素合成アミロースまたはその
化学修飾体と (b) 他の高分子材料との組み合わせを用いて製造される。

10 本発明の生分解性物品の製造に用いることができる他の高分子材料 (b) は、
必ずしも生分解性を有していなくてよい。生分解性を有しない高分子材料を用い
る場合は、酵素合成アミロース部分のみが分解して、その他の部分は分解せずに
残るため、この場合、アミロースの含有量に比例して分解量が増加することにな
る。生分解性を有する他の高分子材料 (b) の例としては、ポリ乳酸、ポリグリ
15 コール酸、ポリ(β-ヒドロキシブチレート)、ポリ(β-ヒドロキシバリレート)、
およびその他のポリ(β-ヒドロキシアルカノエート)、並びに脂肪族生分解性ポ
リエステルなどが挙げられる。

 本発明では、最も好ましくは、他の高分子材料 (b) としてポリ乳酸を使用す
る。

20 酵素合成アミロースまたはその化学修飾体の自然環境下での生分解性は早く、
しかも分解中間体も安全であり最も人間及び自然環境にやさしい素材になるので、
アミロースの含有量を多くするのが好ましい。酵素合成アミロースおよび／また
はその化学修飾体 (a) と他の高分子材料 (b) とを組み合わせる場合、前記成
分 (a) と (b) を重量比 99/1 ~ 1/99、好ましくは 95/5 ~ 5/95、
より好ましくは 90/10 ~ 10/90 で組み合わせて使用する。

25 本発明の生分解性物品には、必要に応じて、可塑剤を加えてさらに高い材料加
工性と強度特性の改良を達成することができる。本発明の生分解性物品には、加
工性や強度特性を制御するための可塑剤として、尿素、大豆油やひまし油等の天
然油脂、および化学分野で知られている多用な生分解性のある酸のアルキルエス
テルを配合しても良い。生分解性のある酸のアルキルエステルとしては、例えば、
フタル酸のモノーまたはジアルキルエステル、コハク酸のアルキルエステル、

乳酸のアルキルエステル、クエン酸のアルキルエステル、アジピン酸のアルキルエステル、ステアリン酸のアルキルエステル、オレイン酸のアルキルエステル、リシノール酸、エルカ酸のアルキルエステルが挙げられ、アルキル基はメチル基、エチル基、プロピル基、ヘキシル基、ヘプチル基、オクチル基等が挙げられる。

5 また、グリセリンのエステル、例えば、グリセリントリアセテート、グリセリンモノおよびジアセテート、グリセリンモノ、ジおよびトリプロピオネート、グリセリンモノ、ジブタノエート、グリセリンモノ、ジおよびトリステアレートなどを使用することができる。とりわけ、可塑剤として尿素やグリセリンを本発明の生分解性物品に配合させることにより、流動温度の低下と伸びの向上が期待できる。

10 本発明の生分解性物品は、製品の特性の範囲を広げるために無機および有機の充填剤を更に含んでもよい。無機および有機の充填剤の例としては、無機充填剤としては、タルク、二酸化チタン、炭酸カルシウム、クレー、砂、白亜、石灰石、珪藻土、珪酸塩、雲母、ガラス、石英およびセラミックスなどが挙げられる。有機充填剤としては、澱粉、セルロース、木材粉、繊維などが挙げられる。

(生分解性物品の各種用途)

本発明にかかる生分解性物品は、たとえば、フィルムやシートなどの成形物へ、通常のプラスチック成形機により成形できる。成形方法は、特に限定されず、例えば、押出成形、射出成形およびフィルム成形法などが適用される。上記以外の成型品や製品の製造においても、従来の製品製造に使用された設備がそのまま使用できる利点を持っている。

20 成形形態は、例えば、フィルム、シート、糸、繊維、不織布またはその他の成形品であってよい。その他の成形品には、たとえば、ハンバーガー、ホットドッグ、フライドポテト、たこやき、餅、白飯、アイスクリーム、ラーメン、カレー、野菜、果物、肉、魚、ジュース、コーヒー、ビール、牛乳などの食品用容器やアイスクリームのコーンカップなどの可食性容器が包含され、あるいは食品用容器以外としても、植木鉢、ゴルフのティー、包装用梱包材、日用品など広い範囲の成形品が含まれる。

25 本発明の生分解性物品を包装用梱包材に適用した場合、優れたプラスチック特

性を有し、たとえば、透明性と光沢度の点で、汎用のプラスチックフィルムと比べて格段に優れているため、包装された内容物の色や柄などを鮮明に見通すことができる利点を持っている。また、本発明の生分解性物品はほとんど帯電性を持たないため、使用中や保存中、特に印刷時のほこり吸着の問題がない。また、フィルムに成形した場合には、ヒートシールや湿潤接着が可能である。

本発明の酵素合成アミロースから得られる生分解性物品は、加工性や強度特性にも優れることから、従来、水溶性合成高分子が使用されていた分野、例えば、従来より澱粉およびポリビニルアルコール(PVA)が使用されてきた塗料や接着剤などの用途分野で用いることができる。その用途としては、①繊維加工用の糊剤として経糸糊や織物仕上糊、捺染糊など、織物樹脂加工用の変性剤、フェルトや不織布などの接着剤、②紙加工用の顔料バインダー、表面サイズ剤、③一般紙用の接着剤として各種紙袋、紙箱、ダンボール、紙管、製本用および、事務用糊、④再湿接着剤としてガムテープ、切手、ラベルなど、⑤合板接着剤などが挙げられる。

また、水溶性の合成高分子や天然澱粉、蛋白を使用してきた医農薬及び肥料などのマトリックス材としても使用できる。

本発明の生分解性物品は、土壤中に埋蔵すると、細菌、微生物によって分解される。したがって、汎用の合成プラスチック製容器のように廃棄物環境汚染問題を起こさない。分解に要する時間は、製品の組成、環境条件などにより一概にはいえないが、数週間から数ヶ月の範囲である。また、製品によっては、土壤中に埋蔵する以外に、飼料あるいは堆肥として使用できる。

本発明の生分解性物品は、酵素合成アミロースおよび／またはその化学修飾体を含有する材料から成るカプセルであってもよい。

本発明において、カプセルは、その内容物を変えることで、非常に広範な分野に適用できる。カプセルの形状や形態およびその寸法も特に制限されない。

前記カプセルを製造するための製法も特に制限されず、公知の製造方法、例えば、①ソフトカプセルの製造法としては、例えば、2枚の被膜シートで充填液を包み込んで打抜き鋳型で打抜くロータリー法、②気中および液中硬化被覆法などの化学的方法、および③金型で成形されたオスおよびメス型のカプセル要素を組

み合わせて成るハードカプセル製造法などが適宜採用されてよい。

前記カプセルは、例えば、工業製品、医農薬品、医療製品、飼料、肥料、日用雑貨および化粧品から選択される少なくとも1種の物品として利用可能である。

5 本発明によれば、カプセルに含まれる酵素合成アミロースの化学修飾置換度(D S)を変化させたり、あるいは前記可塑剤や充填剤などを添加することで、封入される内容物に対する要求特性(疎水性もしくは親油性または親水性など)や得られるカプセルの適用用途における要求特性(加工性、機械特性、成膜性、さらには人体組織との親和性など)を容易に達成することができる。特に、カプセルを低分子量の酵素合成アミロースの化学修飾体から製造することにより、カ
10 プセル自体の老化安定性を向上することができる。

カプセルに封入される内容物は、所望により、粉末固体や疎水性から親水性の液体および溶液まで幅広く対応できる。基本的に、内容物が疎水性の場合は、通常、無置換または低アセチル化度の親水性酵素合成アミロースを用いてカプセルを製造し、あるいは内容物が親水性の場合は、高アセチル化度の疎水性酵素合成
15 アミロースを用いてカプセルを製造する。さらにカプセルは、経口投与される物品に適用される場合には、カプセル自体が体内で消化分解されるように、あるいはカプセルが医療薬品や医療製品に適用される場合は、患部の治癒後、生体内での分解および/または吸収効果されるように製造することができる。

20 本発明の生分解性物品を構成する酵素合成アミロースは、グルコース-1-リン酸などの低分子糖質を原料とするため、ウイルスや細菌、プリオンなどの病原体による感染の怖れが全くなく人体に安全である。したがって、本発明の生分解性物品は、生体適合性医用材料およびそれを含む医療用具としても提供できる。ここで、前記医用材料は、治療目的で人体へ直接適用できるものをいう。また医療用具は、医用材料と同様に、治療目的で、皮膚、筋肉組織や内臓組織などの種々の患部に適用できるものであって、前記医用材料と、別途用意された基材や溶剤、部品または装置とを組み合わせる製造されたものをいう。例えば、医療用具は、
25 患部の組織面の間に介在し、組織の癒着を防止するための癒着防止剤、縫合部などの患部に適用し、組織を接着させるための組織接着剤、創傷部などの患部を被覆して保護するための被覆剤、切開部や創傷部などの患部に適用して止血するた

めの止血剤や塞栓剤などであってよい。

本発明において、生体適合性医用材料およびそれを含む医療用具と人体組織との親和性はいずれも、前述の通り、酵素合成アミロースを化学修飾する際の置換基の親水性基／疎水性基の比率やD Sにより制御でき、更に患部の治癒後には、
5 生体内での分解および／または吸収も期待できる。

本発明の医用材料または医療用具のいずれにおいても、患部に適用される医用材料の量は、患部の部位や面積、ゲル形成が必要とされる時間または期間などに
10 応じて、患部を被覆可能な範囲から選択できる。ここで、「ゲル形成」とは、患部との接触面において、医用材料が患部からの滲出液（すなわち、体液や血液）
を吸収・保持することによって医用材料がゲル化することを意味し、これにより、患部を湿潤環境に保ち、表皮形成を促進すると同時に、細菌などの通り難い環境
を与えることができる。

本発明において、医用材料またはそれを含む医療用具は、慣用の方法、例えば、
15 生分解性物品について記載した前記成分（すなわち、酵素合成アミロースおよび
／またはその化学修飾体（a）、および他の高分子材料（b）、そして所望により可塑剤などの各種添加剤）を混合し、必要により滅菌処理して、所定の容器に
充填し、滅菌処理することにより調製できる。医用材料またはそれを含む医療用
具は、注出可能な容器（注射状の容器など）に必要に応じて噴射剤と共にスプレー
20 ボトルに充填して噴霧により患部に適用されても、あるいは前記成分を基材に
塗布して得られる塗布層を剥離可能な保護シートで被覆することによりシップ剤
やシール剤として患部に適用されてもよい。

前記医用材料および医療用具は、酵素合成アミロースを素材とするため、本質
的に人体に安全で、生体適合性や機械的特性に優れており、糸や布、不織布、フ
ィルム、シート、チューブ、カプセル、またはその他の成形物、ペースト、クリ
25 ーム、またはこれらの組み合わせの形態で提供できる。

また、医用材料および医療用具は、ヒトのほか、種々の哺乳類、例えば、家畜、
ペットなどにも適用することが可能であり、特にそれらの健康維持または内科医
療および外科手術の分野において有効に使用できる。

実施例

比較例 1 (馬鈴薯からのアミロースの抽出)

馬鈴薯根茎から分離した澱粉20 gを1リットルの熱水中によく攪拌しながら添加し、2%の糊液とした。この糊液をオートクレーブ(120℃、30分)した後、不溶解物をガラスフィルターを用いて除去した。この溶液にブタノールを加える(飽和量以上15%)。95℃(沸騰水浴中)にて30分加熱後、魔法瓶の中でゆっくり冷却した。1日後、沈殿物(アミロース/ブタノール複合体)を遠心分離した。再度、熱ブタノール飽和水溶液からアミロース/ブタノール複合体を沈殿させ、分離した。分離した複合体をエタノールで2度洗浄後、真空乾燥した。得られたアミロースの収量は3.5 gであり、重量平均分子量Mwは450 kDaおよび分子量分布Mw/Mnは1.9であった。得られたアミロースは冷水不溶で、130℃オートクレーブ処理した水溶液も白濁し、キャスト法で得られたフィルムも脆く加工できず、強度測定ができなかった。

比較例 2 (コーンスターチからのアミロースの抽出)

コーンスターチを用いた他は比較例 1と同様に処理し、分子量250 kDa、分子量分布1.4のアミロースを得た。得られたアミロースの外観並びに強度特性は比較例1の結果と同様であった。フィルムも脆く加工できず、強度測定ができなかった。

実施例 1 (酵素合成アミロースの合成 (DS : 0.0))

グルコース-1-リン酸 (G-1-P) 60gとマルトペンタオース 5 mgを1.3リットルの0.2Mマレイン酸緩衝液(pH6.0)に溶解し、その溶液に馬鈴薯由来のフォスフォリラーゼ(1500単位)を加えて50℃で、攪拌しながら反応を行った。86時間反応後、溶液を加熱し酵素を失活し、ガラスフィルターにて濾過し失活酵素を除去した。濾液に2倍量のエタノールを加えてアミロースを沈殿させ、遠心分離する。水：エタノール1：1の溶液300ミリリットルで沈殿を2度洗浄して共存するG-1-Pを取り除く。さらに、エタノールで2回洗浄した後、70℃で真空乾燥した。収量18.7 g。なお、フォスフォリラーゼ1単位は1分間にリン酸1 μモルを生成する酵素量である。Mw820 kDaおよびMw/Mn1.05の酵素合成アミロースが得られた。

前記酵素合成アミロースフィルムの光透過度は波長300~800 nmの光に対して

光学密度は0.05以下ときわめて高いのに対し、天然のアミロースの光学密度は0.18～0.38と劣る。酵素合成アミロースは、100ミリリットルの水に15℃で少なくとも2g、70℃で少なくとも5g溶解し、室温に放置しても結晶化せず、そのため白濁も生じない。

- 5 前記酵素合成アミロースの水溶液をポリスチレン板上で37℃、1時間、さらに40℃、24時間キャストし、フィルムを作成した。このフィルムは、透明性に優れ、引張強度も500kgf/cm²（49MPa）以上でポリエチレンやポリプロピレンに匹敵する強度特性を示す。平衡水分に調節した本アミロースは熱可塑性を示し、熱プレスで容易にフィルムやシートに成形できる。グリセリンや尿素などの可塑剤を添加して、溶融押出しによりシートなどの成形品を製造することができる。

- 10 従来より、一般紙用接着剤として各種紙袋、紙箱、ダンボール、紙管、製本などの接着に澱粉、にかわが使用されてきたが、天然品は品質の変動や保存中の変質など多くの問題を抱えている。これに対し本発明のアミロースを紙接着に使用する場合、水溶液固形分10%の糊を10g/cm²塗布した紙の接着力は通常のコーンスターチ4kg/cm²の数倍10kg/cm²の強度を示した。

実施例2（酵素合成アミロースの合成）

- 20 G-1-Pを100gに増量し、マルトペンタオースを2.5mgに減量する以外は実施例1と同様に処理し、反応時間75時間でMw1,400kDaのアミロースを得た。Mw/Mn1.07、収量：17gであった。

このようにG-1-Pとマルトペンタオースの量比を変えることにより合成アミロースの分子量を制御することができる。また反応時間を延ばすことにより、より高分子量のアミロースを調製することも可能である。

実施例3（酵素合成アミロースの合成）

- 25 本実施例では、本発明で採用するSP-GP法により得られる酵素合成アミロースと、公知のAMSU法で得られる酵素合成アミロースの特性を比較する。

6mMリン酸緩衝液（pH7.0）、106mMスクロースおよび種々の濃度のマルトオリゴ糖混合物（2200、880、176、132、44、8.8mg/リットル）を含有する反応液（1リットル）に、馬鈴薯塊茎由来の精製グルカンホスホリラーゼ（1単

位／ミリリットル) と *Leuconostoc mesentroides* 由来スクロースホスホリラーゼ (1 単位／ミリリットル) を加えて 37℃ で 16 時間保温し、反応終了後、生成した アミロースの収率 (%)、重量平均分子量 (M_w) および分子量分布 (M_w/M_n) を決定した。各結果を下記の表 1 に示す。

表 1

試料 #	マルトオリゴ糖混合物 (mg / リットル)	収率 (%)	M_w (kDa)	M_w/M_n	反応液の 形態
1	2200	95.1	11.9	1.05	沈殿
2	880	90.4	29.8	1.03	沈殿
3	176	90.7	84.4	1.02	白濁溶液
4	132	88.8	110.0	1.01	透明溶液
5	44	87.9	276.1	1.01	透明溶液
6	8.8	85.3	741.9	1.01	透明溶液
比較	0	57.0	8.9	1.1	沈殿

5 なお、表 1 には、前記アミロースと比較する目的で、AMS U 法により生成されたアミロースの Montalk ら、FEBS Letters 471、第 219～223 頁 (2000 年) 記載の文献値も併せて示している。

10 表 1 によれば、スクロースとプライマー (すなわちマルトオリゴ糖混合物) との濃度比を変化させることにより、 M_w 11.9～741.9 kDa までの酵素合成アミロースが得られた。アミロースの分子量分布 (M_w/M_n) はいずれも狭かった (全て 1.05 以下)。このうち、試料 # 1 および # 2 は低分子量の酵素合成アミロースは沈殿を形成したが、# 3 以降、重合度が大きくなるにつれて、沈殿の形成は減少し、試料 # 4～# 5 では、反応液は透明なままの水溶性アミロースが製造された。

15 比較試料である AMS U 法による酵素合成アミロースは、プライマー (マルトオリゴ糖混合物) を含まないため、重合度は高くなると予想されるが、実際には 8.9 kDa の不溶性アミロースであった。

20 従って、上記結果からは、本発明で採用される SP-GP 法によれば、公知の AMS U 法では得られない、高分子量でかつ狭い分子量分布の水溶性アミロースが製造できることが分かる。

実施例 4 (酵素合成アミロースの架橋反応)

実施例 1 で得られた酵素合成アミロース 2.5% 水溶液 32 g を苛性ソーダ水溶液

でpH12.8に調製した後、0g～3.840gのノナエチレングリコールジグリシジルエーテル（ナガセ：商品名；デナコールEX-830；分子量526.6）と反応させた。得られた水溶液をポリスチレン板上で37℃、1時間、さらに40℃、24時間キャストし、酵素合成アミロースゲルのフィルムを作成した。フィルムに含まれる

5 デナコールEX-830、苛性ソーダおよび非架橋アミロースを、純水で洗浄することにより除去した。

デナコールEX-830の使用量0g～0.0245gのフィルムは室温で膨潤し、130℃に加熱すると溶解した。しかし、デナコールEX-830を0.483g～3.840gの範囲で添加したフィルムは、膨潤するが、加熱しても溶解しなかった。

10 フィルムはいずれも透明で、優れた強度特性を示した。

比較例3（コーンスターチから抽出されたアミロースの架橋反応）

比較例2で得られたアミロースを用いたこと以外は、実施例4と同様に架橋反応を行いキャストフィルムを作成した。すべてのフィルムは不透明で、脆い強度特性を示した。

15 比較例4

実施例3の試料#2の酵素合成アミロース（Mw29.8kDa、Mw/Mn1.03）を用い、実施例4と同様の手順でフィルム形成を試みたが、得られたフィルムは脆くて強度特性を測定することができなかった。

実施例5

20 実施例3の試料#4の酵素合成アミロース（Mw110kDa、Mw/Mn1.01）を用い、実施例4と同様の手順でフィルム形成したところ、引張強度430kgf/cm²（42.14MPa）の良好な特性を示すフィルムが得られた。

実施例6（アセチル化酵素合成アミロースの合成、DS：2.1）

25 実施例1で得られた酵素合成アミロース10gをジメチルスルホキシド80gに溶解し、炭酸ナトリウム2gを添加後、酢酸ビニル16gを加えて、80℃において120分反応させた。反応後、水を添加して生成物を析出させ、ろ過後、数回水で洗浄し、精製した。収率90%で置換度（DS）2.1、熱流動化温度275℃のアセチル化酵素合成アミロースが得られた。

実施例7（アセチル化酵素合成アミロースのグラフトポリマーからの各種成形）

実施例 6 で得られたアセチル化酵素合成アミロース 10 g に ϵ -カプロラクトン 60 g を加え、オクチル酸スズ (I I) の存在下に 120°C でグラフト重合した。反応時間とともにグラフト反応は進み、モル置換度 (グルコース単位あたりの結合 ϵ -カプロラクトンのモル数) 並びに生成物の重量増加率から、反応は約 10 分では
5 ぼ完了した。熱流動化温度は 275°C から 55°C に低下した。重量増加率から、得られたグラフト率約 70~200% のフィルムは、透明性に優れていた。さらに、示差走査熱量計 (D S C) での測定では、吸熱ピークを示さず、非晶性を示した。

グラフト率 61.5% の前記アセチル化酵素合成アミロースから調製した厚さ 25 μ m の熱圧成形シートから、幅 1 c m および長さ 5 c m の短冊型試験片を切りだし、その引張強度をテンシロンで引張速度 50 m m / 分で測定した。この試験片の引張強度は 180 k g f / c m² (17.64 M P a) および伸びは 5 % であった。グラフト率 276% の前記アセチル化酵素合成アミロースの試験片についても同様にして試験を行なった。その結果、引張強度は 130 k g f / c m² (12.74 M P a) で、伸びは 18% であった。いずれの試験片も汎用ポリオレフィンに相当する強度特性を示した。
10
15

上記で試験したフィルムやシート、成形物はいずれも、通常のプラスチック成形機を用いて調製できた。

実施例 8 (アセチル化酵素合成アミロースからのフィルムの調製)

実施例 6 で得られたアセチル化酵素合成アミロースと等量のポリ- ϵ -カプロラクトンをアセトン/塩化メチレン溶液中でブレンドした後、ガラス板上でキャストした。1 日放置した後で、室温で 1 時間真空乾燥した。得られたフィルムは透明で柔軟性を示し両者の相溶性の良いことを示した。引張強度は 150 k g f / c m² (14.7 M P a) 、伸び 20% であった。
20

実施例 9 (酵素合成アミロースフィルムの生分解性)

実施例 1 で得られたフィルムを土中に埋蔵した結果、1 週間で完全に分解した。
25

実施例 10 (酵素合成アミロースの紡糸)

実施例 1 の酵素合成アミロース 5 % 水溶液を直径 0.1 m m の単孔の紡糸金型を備えた押出機により、常温でメタノール中に押出紡糸し、約 20 μ m のフィラメントを形成した。得られたフィラメントをボビンに巻き取った後、室温で乾燥させ

た。乾燥後のフィラメントの強度は、 $1,450 \text{ kg f/cm}^2$ (142.1 MPa)、伸びは20%であった。

実施例 1 1 (アセチル化酵素合成アミロース (DS : 0.27) を用いたポリ乳酸フィルムとのラミネート)

炭酸ナトリウム0.26 g、酢酸ビニル 2 g を用いた他は実施例 6 の手順に従って、置換度 (DS) 0.27 のアセチル化酵素合成アミロースを調製した。この酵素合成アミロースの 5 % 水溶液を、 $25 \mu\text{m}$ 厚のポリ乳酸フィルム上にアプリケータを用いて塗布した後、乾燥させ、 $3 \mu\text{m}$ 厚の酵素合成アミロース・キャストフィルムを作成した。得られたラミネートフィルムの酵素合成アミロース面に、湿らせた洋紙を重ね合わせ、プレスしながら乾燥させた。その結果、酵素合成アミロースを接着層とした、洋紙とポリ乳酸フィルムの 3 層ラミネートが得られた。

接着強度を測定するために、90度剥離試験を行なったところ、その接着強度は極めて優れており、洋紙層内で破壊が生じたが、酵素合成アミロース層内の破壊や、酵素合成アミロース層と洋紙またはポリ乳酸フィルムとの間での界面剥離はどちらも生じなかった。

本発明により、生分解性材料によるポリ乳酸フィルムの親水性材料のラミネート製造が始めて達成された。

実施例 1 2 (アセチル化酵素合成アミロースの生体適合性)

5 週齢のWistar/ST系雄ラットを購入し、1 週間以上の予備飼育を行って、健康に異常のないことを確認後、試験に使用した。術部を剪毛した後、肩部および臀部皮膚に小孔を開け、直針を用いて実施例 1 0 で得られたフィラメントを留置した。術後 2 週で解剖し、埋入部位の病理組織学的観察を行い炎症反応の有無を調べて生体適合性を評価した結果、良好な生体適合性が認められた。

実施例 1 3 (癒着防止膜としての効果および生体内分解性)

実施例 4 において、デナコール EX-830 を 3.840 g 添加して架橋した酵素合成アミロースから調製したキャストフィルムについて、癒着防止膜としての効果および生体内分解性を下記のように評価した。

雌ラットの一方の卵管に、傷を入れ縫合した後、予め紫外線で滅菌したキャストフィルムで傷の周りを覆った。一方、コントロールとして、同じラットのもう

一方の卵管に同様に傷を入れ縫合したままとした。1週間後に解剖したところ、フィルムを使用しなかったコントロールの方は、傷は治っていたが腹膜と癒着していた。一方、本発明のフィルムで覆った方は、癒着は認められず、癒着防止膜としての効果を発揮すると共に、フィルムは完全に分解され、傷も治っていることが確認された。

実施例 1 4 (酵素合成アミロースのカプセル)

実施例 1 で得られた酵素合成アミロース ($M_w 820 \text{ kDa}$ および $M_w/M_n 1.05$) を用い、下記処方および製法でカプセル剤を製造した。

カプセル剤処方	配合量(重量%)
被膜液処方：	5
酵素合成アミロース	
尿素	2
イオン交換水	93
内容物充填液処方：	
レモンオイル	8.5
ペパーミント	1.5
ヤシ油	90

カプセル剤製法：

公知の二重ノズル滴下法を適用した。カプセル被膜11で内容物12が内包された二重構造の本発明のカプセル剤10を製造した。図1には、二重ノズル滴下法で使用される装置100の断面図を表す。二重ノズル滴下法において、装置から噴出されたカプセル剤は、乾燥のために水・エタノール混合溶液130中に滴下される。装置100において、内容物のノズル110の径 ϕ_1 は1.0mm、被膜液用ノズル120の径 ϕ_2 は1.2mmである。得られたカプセル10の平均粒径 d は1.2mm、被膜率は10重量%であった。ただし、被膜率はカプセルの全重量に対する被膜の重量%である。得られたカプセル10は、良好な強度と優れた内容物保持性を示した。

実施例 1 5 (アセチル化酵素合成アミロース (DS : 2.6) のカプセル)

炭酸ナトリウム2.5gおよび酢酸ビニル20gを用いたこと以外は、実施例6と同様にして得られたアセチル化酵素合成アミロース (DS : 2.6) を用い、下記処方および製法でカプセル剤を製造した。

カプセル剤処方	配合量 (重量%)
---------	--------------

被膜液処方：

アセチル化酵素合成アミロース (DS : 2.6)	5
フタル酸ジエチル	5
アセトニトリル	90

内容物充填液処方：

アセトアミノフェン	0.02
イオン交換水	99.98

カプセル剤製法：

実施例 14 と同様の方法で処理して、2重構造の本発明のカプセル剤を得た。得られたカプセル10の平均粒径 d は1.2mm、被膜率は10重量%であった。得られたカプセル10は良好な強度と内容物の保持性を示した。

請 求 の 範 囲

1. ホスホリラーゼを用いて酵素合成された酵素合成アミロースから得られる生分解性物品であって、酵素合成アミロースが、 α -1,4-グルコシド結合のみに
5 より連結された糖単位から構成され、かつ重量平均分子量100kDa以上を有することを特徴とする生分解性物品。
2. 酵素合成アミロースが、重量平均分子量600kDa以上を有する請求項1記載の生分解性物品。
3. 酵素合成アミロースが、分子量分布 (M_w/M_n) 1.25以下であることを特徴とする請求項1または2記載の生分解性物品。
10
4. 酵素合成アミロースが、エステル化、エーテル化、酸化、グラフト化及び／または架橋反応により化学修飾されている請求項1～3のいずれかに記載の生分解性物品。
5. 酵素合成アミロースが、グルコース-1-リン酸を基質とし、そしてマルトオリゴ糖をプライマーとして用い、ホスホリラーゼとしてのグルカンホスホリラーゼの作用により酵素合成されたものである請求項1記載の生分解性物品。
15
6. 酵素合成アミロースが、スクロースを基質とし、そしてマルトオリゴ糖をプライマーとして用い、これらにホスホリラーゼとしてスクロースホスホリラーゼおよびグルカンホスホリラーゼの2種の酵素を無機リン酸の存在下で同時に作用させることによって酵素合成されたものである請求項1記載の生分解性物品。
20
7. スクロースホスホリラーゼがLeuconostoc属細菌由来の酵素である請求項6記載の生分解性物品。
8. グルカンホスホリラーゼが植物起源のものである請求項6記載の生分解性製品。
9. グルカンホスホリラーゼが馬鈴薯または甘藷澱粉由来のものである請求項6記載の生分解性物品。
25
10. (a) ホスホリラーゼを用いて酵素合成された α -1,4-グルコシド結合のみにより連結された糖単位から構成され、かつ重量平均分子量100kDa以上を有する酵素合成アミロース、および／またはそれをエステル化、

エーテル化、酸化、グラフト化及び／または架橋反応により化学修飾したもの、および

(b) 他の高分子材料

を含有する材料から得られる生分解性物品。

- 5 11. 他の高分子材料 (b) が、ポリ乳酸である請求項 10 記載の生分解性物品。
12. 生分解性物品が、フィルム、シート、糸、繊維、不織布またはその他の成形品である請求項 1 または 10 記載の生分解性物品。
13. 生分解性物品が、塗料または接着剤である請求項 1 または 10 記載の生分解性物品。
- 10 14. 生分解性物品が、医薬、農薬または肥料である請求項 1 または 10 記載の生分解性物品。
15. 生分解性物品が、生体適合性医用材料である請求項 1 または 10 記載の生分解性物品。
16. 生分解性物品が、カプセルである請求項 1 または 10 記載の生分解性物品。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/06147

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12P19/04, C08B30/20, C08L3/12, 3/14, A61L15/14, 24/08, 31/04, A61K47/36, 9/48, C09D103/12, 103/14, 167/04, A01N25/00, 25/34, C09J103/12, 103/14, 167/04, C05G3/00, C08J5/18

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12P19/04-19/10, C08B30/20, C08L3/12-3/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS/WPI (DIALOG)

JICST (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 7-289278 A (Nakano Vinegar Co., Ltd.), 07 November, 1995 (07.11.95), (Family: none)	1-5, 10-16 6-9
X	WHITESIDES G. M. et al., "The enzymic utilization of sucrose in the synthesis of amylose and derivatives of amylose, using phosphorylase", Carbohydrate Research, December, 1986, 157, pages c4 to c7	1-16
A	WO 90/13576 A (Battelle-Inst. EV), 15 November, 1990 (15.11.90), & EP 422176 A & JP 4-502030 A & US 5374304 A	1-16
A	EP 376201 A (Nat. Starch & Chem. Corporation), 04 July, 1990 (04.07.90), & JP 2-298525 A & US 5043196 A	1-16
A	JP 4-46901 A (TDK Corporation), 17 February, 1992 (17.02.92), (Family: none)	1-16

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
26 October, 2001 (26.10.01)

Date of mailing of the international search report
13 November, 2001 (13.11.01)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/06147

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Pierre MONSAN et al., "Amylosucrase from Neisseria polysaccharea: novel catalytic properties", FEBS Letters, April, 2000, 471, pages 219 to 223	1-16

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C12P19/04, C08B30/20, C08L3/12, 3/14, A61L15/14, 24/08, 31/04, A61K47/36, 9/48, C09D103/12, 103/14, 167/04, A01N25/00, 25/34, C09J103/12, 103/14, 167/04, C05G3/00, C08J5/18

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C12P19/04-19/10, C08B30/20, C08L3/12-3/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS/WPI (DIALOG)
JICST (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	JP 7-289278 A (株式会社中埜酢店) 7. 11月. 1995(07. 11. 95) ファミリーなし	1-5, 10-16 6-9
X	WHITESIDES G.M. et al., The enzymic utilization of sucrose in the synthesis of amylose and derivatives of amylose, using phosphorylase. Carbohydrate Research, 1986 Dec., 157, c4-c7	1-16

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献、

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 10. 01

国際調査報告の発送日

13.11.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小暮 道明

4B

9838

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 90/13576 A (BATTELLE-INST EV) 15. 11月. 1990(15. 11. 90) & EP 422176 A & JP 4-502030 A & US 5374304 A	1-16
A	EP 376201 A (NAT STARCH&CHEM CORP) 4. 7月. 1990(04. 07. 90) & JP 2-298525 A & US 5043196 A	1-16
A	JP 4-46901 A (ティーディーケイ株式会社) 17. 2月. 1992(17. 02. 92) ファミリーなし	1-16
A	Pierre MONSAN et al., Amylosucrase from Neisseria polysaccharea: novel catalytic properties. FEBS Letters, 2000 Apr., 471, p. 219-223	1-16